



CALDO DE LACTOSE-SULFITO (LB)

CONFIRMAÇÃO DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

USO

Caldo de Lactose-Sulfito é um meio de confirmação que permite a detecção seletiva tanto das células vegetativas quanto dos esporos de *Clostridium perfringens* em produtos alimentícios e amostras biológicas de origem animal, sem os habituais testes confirmatórios.

A composição típica responde ao definido na norma NF EN ISO 7937, para a enumeração de *Clostridium perfringens* em microbiologia alimentar.

HISTÓRIA

Usando o trabalho anterior de Put (1961) relativo à sensibilidade do *Clostridium* ao sulfito, o crescimento ideal do *Clostridium perfringens* a 46°C, bem como sua capacidade de fermentar a lactose, Beerens *et al.* em 1982 formularam e desenvolveram com sucesso o caldo LS. Em particular, eles recomendaram seu uso para detecção de pequenas quantidades de *Clostridium perfringens* em produtos alimentícios nos quais houve uma forte contaminação secundária de outras bactérias redutoras de sulfito.

PRINCÍPIOS

A especificidade do meio para *Clostridium perfringens* deve-se principalmente à resistência do microorganismo aos sulfitos e sua capacidade de fermentar a lactose com produção de gás.

A concentração de metabissulfito inibe o desenvolvimento da maioria dos clostrídios, exceto *Clostridium perfringens*.

A incubação a 46°C assegura o cultivo específico de *Clostridium perfringens*, que reduz o metabissulfito de sódio a sulfeto, provocando com citrato férrico um precipitado negro de sulfeto de ferro que se deposita no fundo do tubo de cultura.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter o desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- Triptona	4,44 g
- Extrato de levedura	2,22 g
- Cloridrato de L-cisteína	0,27 g
- Lactose	8,89 g
- Cloreto de sódio	2,22 g
- Metabissulfito de sódio	0,67 g
- Citrato férrico de amônio	0,56 g

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França

Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,1 ± 0,2.

PREPARAÇÃO

Uso de meio desidratado:

- Dissolver 19,3 g de meio desidratado (BK140) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Mexer lentamente até a dissolução completa.
- Dispensar 9 mL em tubos de tamanho apropriado contendo um tubo Durham.
- Esterilizar em autoclave a 121 °C por 15 minutos.
- Resfriar a temperatura ambiente.

- | |
|--|
| ✓ <u>Reconstituição:</u>
19,3 g/L |
| ✓ <u>Esterilização:</u>
15 min a 121 °C |

Uso de meio pronto para derreter:

- Antes de usar, regenerar o meio aquecendo os tubos por 10 minutos a 100°C.
- Resfriar a temperatura ambiente.

INSTRUÇÕES DE USO

- Reinocular 5 colônias negras a partir do ágar TSC nos tubos de meio de tioglicolato com resazurina (BK017, BM082).
- Incubar os tubos em condições anaeróbicas por 18 a 24 horas a 37°C.
- Inocular 5 gotas da cultura obtida nos tubos de tioglicolato em cada tubo de caldo LS preparado conforme descrito.
- Eliminar o ar nos tubos de Durham virando os tubos de cabeça para baixo.
- Incubar a 46°C durante 18 a 24 horas num banho de água controlado.

- | |
|--|
| ✓ <u>Inoculação:</u>
5 gotas de inóculo |
| ✓ <u>Incubação:</u>
15 a 24 h a 46°C |

RESULTADOS

Verifique se as tampas estão ligeiramente desapertadas antes de ler os resultados.

A fermentação da lactose é indicada pela presença de gás nos tubos de Durham (volume mínimo igual a ¼ de volume do próprio tubo de Durham) em 24 horas, bem como o aparecimento simultâneo de um sulfeto de ferro preto precipitar nos tubos de cultura indicando a presença de *Clostridium perfringens*.

NOTA: Para meio pronto para uso em tubos, a cor do precipitado de sulfeto de ferro pode ser de cinza a preto,

Ver ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Biokar Diagnostics – Rue des Quarantes Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



Meios desidratados: creme em pó, fluido e homogêneo.

Meios preparados: solução âmbar, límpida.

Resultado do cultivo após 24 horas de incubação a 46 °C:

Microrganismos		Crescimento	Produção de gás	Escurecimento
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Bom, nota 2	Positivo	Positivo
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00080	Bom, nota 2	Positivo	Positivo
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC®19404	Fraco, nota 1	Negativo	Possível

ARMAZENAMENTO / CONSERVAÇÃO

Meio desidratado: 2 – 30°C.

Meio pronto para uso: 2 – 8°C, protegido da luz.

A data de validade está indicada nos rótulos.

Meios preparados em tubos (*): usar no mesmo dia da preparação.

(*) Valor de referência determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

EMBALAGEM

Meio desidratado:

Garrafa de 500 gBK140HA

Meio pronto para uso:

Embalagem de 7 tubos de 9mL com tubo DurhamBM19208

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beerens, H., Romond, C.H., Lepage, C., and Criquelion, J. 1982. A Liquid Medium for the Enumeration of *Clostridium perfringens* in Food and Faeces. Isolation and Identification Methods for Foods Poisoning Organisms. Edited by Academic Press London, 137-149.

NF EN ISO 7937. Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*. Technique par comptage des colonies.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: LACTOSE SULFITE BROTH_ENV10

Data de criação: 01 – 2004.

Data de revisão: 01 – 2022.

Motivo da revisão: Modificação do parágrafo de controle de qualidade.

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



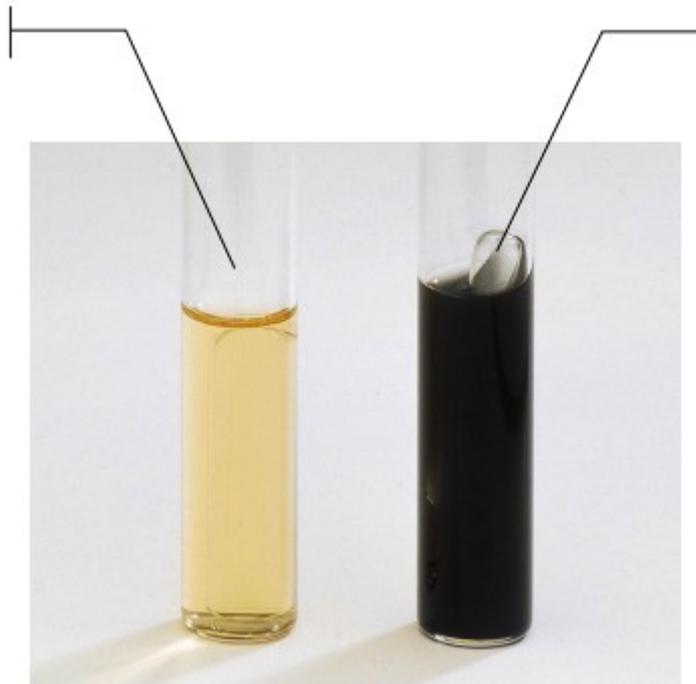
CALDO de Lactose-Sulfito (LS)

Deteção e confirmação de *Clostridium perfringens*.

Resultados:

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 46°C.

Controle negativo



Amostra positiva

Características:
Escurecimento do meio e presença de gás nos tubos de Durham